a mson.

EXPOSÉ DES
TITRES
ET
TRAVAUX SCIENTIFIQUES

du

Docteur Jean ROCHE

Chef des Travaux de Chimie biologique
à la Faculté de Médecine

de

STRASBOURG

LIBRAIRIE UNIVERSITAIRE D'ALSACE
1, Place de l'Université, 1
STRASBOURG
1930

À Monsieur le Professeur Roger
hommage respectueux
Jean Lochs

EXPOSÉ DES
TITRES
ET
TRAVAUX SCIENTIFIQUES

du

Docteur Jean ROCHE

Chef des Travaux de Chimie biologique
à la Faculté de Médecine
de
STRASBOURG



LIBRAIRIE UNIVERSITAIRE D'ALSACE
1, Place de l'Université, 1
STRASBOURG
1930

I.

TITRES et FONCTIONS

A. — Etapes scolaires.

1917. — Baccalauréat (Aix).

1918 — Certificat d'études physiques, chimiques et naturelles (Montpellier).

1920 — Concours d'adjuvat de physiologie (Faculté de Médecine de Montpellier).

1921 — Certificat d'études supérieures de Chimie générale (Montpellier).

1922 — Certificat d'études supérieures de Chimie appliquée (Montpellier).

1922 — Certificat d'études supérieures de minéralogie (Montpellier).

1922 — Lauréat de la Faculté des Sciences de Montpellier (Prix de la Ville de Montpellier, décerné à l'étudiant ayant obtenu au cours de l'année le total de points le plus élevé dans deux certificats de Licence ès-Sciences.)

1922 — Licence ès-Sciences.

1923 — Certificat d'études supérieures de Physiologie générale (Strasbourg).

1925 — Doctorat en médecine (Montpellier).

1925 — Lauréat de la Faculté de Médecine de Montpellier (Prix Fontaine, meilleure thèse).

B. — Fonctions Universitaires.

1920—1923 — Aide de Physiologie à la Faculté de Médecine de Montpellier (Laboratoire du Professeur E. Hédon).

Depuis 1925 — Chef des travaux de Chimie biologique à la Faculté de Médecine de Strasbourg (Institut du Professeur M. Nicloux).

C. — Enseignement.

1920—1923 Travaux pratiques de Physiologie en qualité d'assistant (Montpellier).

1920—1923 — Travaux pratiques de Pathologie expérimentale en qualité d'assistant (Montpellier).

Depuis 1925 — Conférences préparatoires aux travaux pratiques et complémentaires au cours magistral (Strasbourg).

Travaux pratiques de Chimie biologique (Strasbourg).

D. — Séjour dans divers laboratoires à titre non officiel.

1921 — Laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine de Lausanne (Prof. M. Arthus). Cours d'été.

1923 — Laboratoire de Physiologie générale de la Faculté des Sciences de Strasbourg (Prof. E. F. Terroine); un semestre, en qualité de Boursier de la Société des Amis de l'Université de Strasbourg.

1926 — Laboratoire Carlsberg à Copenhague (Prof. S. P. L. Sörensen); un semestre en qualité de Boursier de la Fondation Rockefeller.

1928 — Laboratoire de Physiologie (Prof. V. Henriquès) et de Chimie biologique (Prof. R. Ege) de la Faculté de Médecine de Copenhague ; un semestre en qualité d'invité du Prof. V. Henriquès.

II.

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

I.

INDEX CHRONOLOGIQUE DES PUBLICATIONS

ABRÉVIATIONS.

C. R. Ac. Sc. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences.*
C. R. Soc. Biol. *Comptes Rendus de la Société de Biologie.*
C. R. Lab. Carlsberg. *Comptes Rendus du Laboratoire Carlsberg.*
Bul. Soc. Chim. biol. *Bulletin de la Société de Chimie biologique.*
Arch. int. de Physiol. *Archives internationales de Physiologie.*
Arch. Phys. biol. *Archives de Physique biologique.*
Arch. int. de Pharmacol. et Thérap. *Archives internationales de Pharmacologie et Thérapie.*

Le premier chiffre représente l'année, le second (en caractères romains) la tomaison, le troisième la pagination: première page s'il s'agit d'une Note, première et dernière pages s'il s'agit d'un Mémoire.

1923

1. — Quelques notes sur les dérivés de la chlorophylle en collaboration avec F. Portes.
Bul. Soc. Sc. méd. et biol. de Montpellier et du Lang. méd., 1923, IV, 192.

1925

2. — Production calorique et respiration des tissus *in vitro* chez les homéothermes, (en collaboration avec E. F. Terroine).
C. R. Ac. Sc., 1925, *CLXXX*, 225.
3. — La respiration des tissus dans l'avitaminose et l'inanition.
C. R. Ac. Sc., 1925, *CLXXX*, 467.
4. — La respiration des tissus. I. Production calorique des homéothermes et intensité de la respiration *in vitro* des tissus homologues, (en collaboration avec E. F. Terroine).
Arch. intern. de Physiol. 1925, *XXIV*, 356—400
5. — La respiration des tissus. II. Avitaminose et inanition.
Arch. intern. de Physiol. 1925, *XXIV*, 413—428.
6. — Causes des différences d'intensité de respiration élémentaire des tissus (en collaboration avec E. F. Terroine).
C. R. Ac. Sc., 1925, *CLXXX*, 1061.
7. — Contribution à la biochimie de la méthémoglobine.
Thèse de Doctorat en médecine. Montpellier, 1924—1925, N° 80, 116 pages, 2 fig., Imprimerie manufacture de la Charité.

8. — Sur la teneur en oxygène de la méthémoglobine (en collaboration avec M. Nicloux).
C. R. Ac. Sc., 1925, *CLXXX*, 1968.

9. — Sur la teneur en oxygène de la méthémoglobine : méthémoglobine dissoute et méthémoglobine *in globulo* (en collaboration avec M. Nicloux).
C. R. Soc. Biol., 1925, *XCIII*, 275.

10 — Dosage de l'oxygène dans le sang (en collaboration avec M. Nicloux).
C. R. Soc. Biol., 1925, *XCII*, 1393.

11 — Sur la méthémoglobinisation : l'action de l'hydroxylamine sur le pigment sanguin.
C. R. Soc. Biol., 1925, *XCIII*, 1377.

12 — Préparation de l'oxyhémoglobine cristallisée par ultrafiltration (en collaboration avec L. Thivolle).
Bull. Soc. Chim. biol., 1925, *VII*, 753—754.

13 — Remarques sur la mesure du pH du sang total et du plasma à l'aide de l'électrode à quinhydrone (en collaboration avec E. Vellinger).
Bull. Soc. Chim. biol., 1925, *VII*, 1004—1008.

14 — Etude de la réaction du ferricyanure de potassium sur le pigment sanguin (en collaboration avec M. Nicloux).
C. R. Ac. Sc. 1925, *CLXXXI*, 823.

15 — Étude de la réaction du ferricyanure de potassium sur l'hémoglobine, l'oxyhémoglobine, l'hémoglobine oxycarbonée et teneur en oxygène de la méthémoglobine (en collaboration avec M. Nicloux).
C. R. Soc. Biol., 1925, *XCIII*, 1373.

16. — Sensibilité comparée de la méthémoglobine et de l'oxyhémoglobine à l'action d'un réducteur.
C. R. Soc. Biol., 1925, *XCIII*, 1659.

1926

17. — Sur la teneur en oxygène de la méthémoglobine, (en collaboration avec M. Nicloux).
Bull. Soc. Chim. biol., 1925, *VIII*, 72—97.

18. — Sur la méthémoglobinisation : l'action de l'hydroxylamine sur l'hémoglobine.
Bull. Soc. Chim. biol., 1926, *VIII*, 98—112.

19. — Sur la teneur en oxygène de l'hématine.
C. R. Soc. Biol., 1926, *XCIV*, 461.

20. — Sur les combinaisons de l'hémochromogène avec l'oxygène et avec l'oxyde de carbone en milieu acide ou basique.
C. R. Soc. Biol., 1926, *XCIV*, 463.

21. — Recherches sur les combinaisons du groupement prosthétique de l'hémoglobine avec l'oxygène et l'oxyde de carbone. La teneur en oxygène de l'hématine.
Bull. Soc. Chim. biol., 1926, *VIII*, 362—382.

22. — Action de l'insuline sur la disparition du glucose et sur les oxydations dans le sang *in vitro*, (en collaboration avec O. Kauffmann-Cosla).
Bull. Soc. Chim. biol., 1926, *VIII*, 636—654

23. — Action de l'insuline sur les oxydations cellulaires *in vitro* et *in vivo*. L'insuline dans la thérapeutique de la «déso-

xydative carbonurie» (en collaboration avec O. Kauffmann-Cosla).
Ann. de Méd., 1926, *XX*, 128—144.

24. — Sur l'assimilation par l'animal adulte du carbone de diverses protéines alimentaires aptes à l'entretien (en collaboration avec O. Kauffmann-Cosla).
Bull. Soc. Chim. biol., 1926, *VIII*, 942—957.

25. — Influence de la nature de l'alimentation protéique sur l'élimination du calcium (en collaboration avec O. Kauffmann-Cosla).
C. R. Soc. Biol., 1926, *XCV*, 351.

26. — Sur l'assimilation de l'azote et du carbone de diverses matières protéiques alimentaires aptes à l'entretien (caséine, blanc d'œuf, albumine du blé) par l'animal adulte (en collaboration avec O. Kauffmann-Cosla).
Bull. Soc. biol., 1926, *XCV*, 349.

27. — Action de la température sur la respiration *in vitro* des tissus d'homéothermes et de poikilothermes.
C. R. Ac. Sc., 1926, *CLXXXII*, 91.

28. — La respiration des tissus. III. Influence de l'excitant thermique sur la respiration *in vitro* de quelques tissus d'homéothermes et de poikilothermes.
Arch. intern. de Physiol., 1926, *XXVI*, 5—20.

29. — Sur la teneur en oxygène de la méthémoglobine (en collaboration avec M. Nicloux).
*Communication aux XII*ème *Congrès International de Physiologie* à Stockholm .

1927

30. — Sur les variations de la vitesse de la glycolyse du sang humain *in vitro* en fonction du pH (en collaboration avec A. Roche).
C. R. Soc. Biol., 1927, *XCVI*, 361.

31. — Variations du pH du sang au cours de la glycolyse, (en collaboration avec A. Roche).
C. R. Soc. Biol., 1927, *XCVI*, 359.

32. — On Sammenhangen mellen Brintjonkoncentration og Glykolyse i Menneskeblod (*en langue danoise :* Sur les rapports de la glycolyse et du pH dans le sang humain en collaboration avec A. Roche).
Hospitalstidende, 1927, *XLI*, 1002—1007.

33. — Sur la respiration *in vitro* du sang de divers animaux homéothermes (en collaboration avec E. Siegler-Soru).
C. R. Ac. Sc., 1927, *CLXXXIV*, 1276.

34. — Recherches sur l'existence du lactacidogène dans le sang, (en collaboration avec A. Roche).
C. R. Ac. Sc., 1927, *CLXXXV*, 873.

35. — De la participation d'un éther phosphorique à la glycolyse du sang *in vitro* (en collaboration avec A. Roche).
C. R. Soc. Biol., 1927, *XCVII*, 802.

36. — Sur le rôle du calcium dans l'action de l'enzyme glycolytique et de la phosphatase du sang. Localisation de cette action sur la formation d'un éther phosphorique (en collaboration avec A. Roche).
C. R. Soc. Biol., 1927, *XCVII*, 804.

37. — Sur l'élimination d'acide lactique et d'aldéhyde acétique dans la dyscarbonurie du diabète et de la carence en vita-

mines A, B, C, (en collaboration avec O. Kauffmann-Cosla).
C. R. Soc. Biol., 1927, *XCVII*, 807.

1928

38. — Recherches sur la précipitation du phosphore à l'état de phosphomolybdate de strychnine (méthode d'*Embden*). Applications au microdosage des diverses «formes» de phosphore du sang et du phosphore combiné dans les substances organiques sèches ou en solution.
Bull. Soc. Chim. biol., 1928, *X*, 1061—1078, 1 fig.
39. — Sur la combinaison de l'hématine à la globine.
C. R. Soc. Biol., 1928, *IC*, 1971.
40. — Existe-t-il des substances réductrices non fermentescibles dans le sang? Sur le dosage des substances réductrices du sang par la méthode de *Hagedorn-Jensen*.
C. R. Soc. Biol., 1928, *IC*, 861.
41. — Application de la méthode de *Nicloux* au dosage du carbone dans les filtrats de déprotéinisation du sang.
C. R. Soc. Biol., 1928, *IC*, 714.
42. — Quelques données sur le carbone des filtrats de déprotéinisation du sang total, du sérum et des globules.
C. R. Soc. Biol., 1928, *IC*, 716.
43. — Essai d'isolement physiologique de la vitamine provoquant la dyscarbonurie et l'élimination urinaire de produits intermédiaires du métabolisme des glucides.
C. R. Soc. Biol., 1928, *IC*, 589.
44. — Des variations du rapport C/N urinaire du rat au cours de l'inanition et de la carence en facteur B. Différencia-

tion de la mort par inanition et de la mort par avitaminose B.
C. R. Soc. Biol., 1928, *IC*, 671.

1929

45. — Recherches sur la participation d'une combinaison phosphorée à la glycolyse du sang *in vitro*.
Bull. Soc. Chim. biol., 1929, *XI*, 549—559.

46. — Dosage du carbone dans les filtrats de sang déféqué.
C. R. Soc. Biol., 1929, *C*, 278.

47. — Sur le carbone total des filtrats de sang déféqué.
Le Sang, 1929, *III*, 657—661.

48. — Le microdosage de l'azote et du carbone dans les matières fécales (en collaboration avec A. Boivin).
Bull. Soc. Chim. biol., 1929, *XI*, 543—548.

49. — Sur le taux des substances réductrices non fermentescibles et non glycolysables dans le sang humain (en collaboration avec R. Ege).
C. R. Soc. Biol., 1929, *CI*, 93.

50. — Sur les substances réductrices et non fermentescibles du sang. Leurs variations et leur répartition entre les globules et le sérum (en collaboration avec R. Ege).
C. R. Soc. Biol., 1929, *CI*, 95,

51. — Sur les substances réductrices du globule rouge humain. Y a-t-il du glucose adsorbé à la paroi des hématies (en collaboration avec R. Ege).
C. R. Soc. Biol., 1929, *CI*, 89, 1 fig.

52. — Sur l'importance de la défécation dans le dosage du «reste de fermentation» du sang (en collaboration avec R. Ege).
C. R. Soc. Biol., 1929, *CII*, 703, 1 fig.

53. — Sur quelques propriétés physico-chimiques de la globine naturelle.
C. R. Ac. Sc., 1929, *CLXXXIX*, 378, 1 fig.

54. — Sur quelques propriétés physico-chimiques de la globine.
Arch. Phys. biol., 1929, *VII*, 165—179, 3 fig.

55. — La respiration des tissus. IV. Sur la consommation d'oxygène *in vitro* du sang de divers animaux homéothermes (en collaboration avec E. Siegler-Soru).
Arch. intern. de Physiol., 1929, *XXXI*, 413—427.

56. — Du rôle de l'inanition dans la mort par carence en facteur B. Remarques sur les variations du rapport C/N urinaire au cours de l'avitaminose B chez le rat.
C. R. Soc. Biol., 1929, *C*, 849, 1 fig.

57. — Recherches sur la globine.
Communication faite au XIIIe Congrès international de Physiologie à Boston.

1930

58. — Recherches sur quelques propriétés physico-chimiques des hémocyanines du poulpe et de la limule.
Arch. Phys. biol., 1929, *VII*, 6 fig.

59. — On the residual reduction of the whole blood, serum and corpuscules .(Sur le reste de fermentation du sang total,

du sérum et des globules ; en collaboration avec R. Ege).
Skand. Arch. f. Physiol., 1930, *LIX*, 75—88, 3 fig.

60. — Recherches sur la globine.
C. R. Lab.Carlsberg, (édition française et édition danoise) 1930, *XVIII*, 4ème fasc. 34 pages, 11 fig.

61. — Recherches sur le syndrome urinaire des troubles métaboliques provoqués par la carence en facteur B chez le rat.
Bull. Soc. Chim. biol., 1930, *XII*, 342—356, 10 fig.

62. — Etude du pouvoir tampon du corps vitré et des caractères physico-chimiques de ses constituants protéiques, (en collaboration avec P. Reiss).
C. R. Soc. Biol., 1930, *CIII*, 1154.

63. — Etude du corps vitré comme système d'oxydation-réduction, (en collaboration avec P. Reiss).
C. R. Soc. Biol., 1930, *CIII*, 1156.

64. — Sur l'action physiologique de la méthémoglobinisation du sang.
Arch. int. Pharmacol. et Thérap., (sous presse).

65. — Recherches sur le «phosphore acidosoluble« du sang. I. Sur la composition élémentaire des filtrats de sang déféqué et sur le fractionnement des combinaisons phosphorées. II. Sur la participation de corps phosphorés au pouvoir réducteur du sang.
Bull. Soc. Chim. biol., 1930, *XII*, (mémoire présenté à la séance du 18 février 1930, sous presse).

II.

ANALYSE des TRAVAUX

OBSERVATION.

Les chiffres placés entre crochets, à la suite du titre de chaque paragraphe ou dans le texte, correspondent aux numéros des diverses publications dans l'Index chronologique.

ERRATUM

Au cours des corrections de la *troisième* épreuve, portant le bon à tirer, le typographe desservi par l'emploi d'une nouvelle machine à composer a, non seulement créé de toutes pièces des fautes d'impression, mais fait tomber la composition de mots ou de membres de phrases.

Nous nous en excusons. Cet erratum rétablit le texte dans son état primitif.

Page 17, ligne 16	au lieu de : Bul. Soc. biol., lire : *Bul. Soc. Chim. Biol.*
— 27, dernière ligne	au lieu de : ...avant par des, lire : avant *tout* par des..
— 29, ligne 24	au lieu de : la combinaison réduite.., lire : la combinaison de *l'hématine* réduite...
— 31, — 11	au lieu de : salifica, lire *salification.*
et — 13	supprimer teurs, au début de la ligne.
— 39, — 19	au lieu de : avce, lire *avec.*
— 46, — 21	— si son point, lire : *ni* son point
— 47, — 15	— optiun d'action, lire : *optimum* d'action.
— 52, — 2	— dans nous venons, lire : *dont* nous venons...
et — 17	— soti au cours, lire : *soit* au cours
— 60, — 15	— la carence portant, lire : la carence, *et* portant.
— 61, — 17	— probable, lire : *probablement.*
— 64, — 8	— ferrycyanure, lire : *ferricyanure.*
— 64, — 10	— *Moitessier*, où l'on opère, lire : *Moitessier, Haldane, est facilité par le vide réalisé dans l'appareil de Nicloux,* où l'on opère...

I. BIOCHIMIE DU SANG

A. RECHERCHES SUR L'HÉMOGLOBINE ET SES DÉRIVÉS.

Trois questions ont été principalement abordées dans ces recherches : la capacité d'oxydation de la méthémoglobine pour les réducteurs, — ou suivant la terminologie alors en cours, «la teneur en oxygène de la méthémoglobine», — le mécanisme de la méthémoglobinisation sous l'action de certains agents : le ferricyanure de potassium, l'alcool, l'hydroxylamine ; et le rôle physiologique de la méthémoglobinisation dans certaines intoxications, celle par l'huile d'aniline en particulier.

La première question et une partie de la seconde ont été étudiées en collaboration avec mon Maître le Professeur *M. Nicloux,* et l'ensemble du travail a été fait sous sa direction.

a) «*Teneur en oxygène de la méthémoglobine*» **[7, 8, 9, 17].**

Les réducteurs transforment l'oxyhémoglobine en hémoglobine en lui empruntant son oxygène. Les mêmes corps font passer la méthémoglobine à l'état d'hémoglobine, aussi a-t-on pris l'habitude de considérer que la méthémoglobine «contient de l'oxygène» alors que sa réduction, comme l'a indiqué *J. B. Connant,* s'effectue peut-être sans mettre en jeu de l'oxygène fixé sur ce pigment, par un mécanisme analogue à celui de la réduction du ferricyanure de potassium en ferrocyanure. Dans nos

publications nous avons conservé l'expression classique «teneur en oxygène de la méthémoglobine», bien qu'elle ne corresponde en réalité qu'à une capacité d'oxydation du pigment pour les réducteurs, et cela aux dépens d'oxygène dont nous ignorons actuellement encore la source.

De nombreux travaux antérieurs aux nôtres ont fait de la méthémoglobine un composé renfermant plus, autant, ou moins d'oxygène que l'oxyhémoglobine.

Nous avions cru devoir fixer la quantité d'oxygène de la méthémoglobine à la moitié de celle contenue dans l'oxyhémoglobine et celà grâce à des expériences simples, dont l'exactitude a été confirmée par *Conant* et *Fieser*, par *Balthazard* et *Philippe*, mais dont l'interprétation doit être aujourd'hui réservée.

La première série d'expériences consistait à soustraire à de la méthémoglobine, au moyen d'une solution d'hydrosulfite de soude titrée, un volume *a* d'oxygène ; l'hémoglobine ainsi formée est agitée au contact de l'oxyde de carbone pur et on constate que le volume de ce gaz fixé est égal à *2a*, comme le serait également le volume d'oxygène fixé par agitation à l'air après l'action du réducteur. On en déduit logiquement que l'hémoglobine provenant de la méthémoglobine par soustraction du volume *a* d'oxygène est capable de fixer ensuite 2*a* d'oxygène pour donner de l'oxyhémoglobine. Le premier pigment renfermerait donc la moitié de l'oxygène du second.

Dans la seconde série d'expériences, en employant une solution d'hydrosulfite de soude titrée, on soustrait à des volumes égaux d'une solution d'oxyhémoglobine et d'une solution de méthémoglobine de même concentration, tout l'oxygène des pigments. Un tour de main expérimental permet de déceler dans

les deux cas un léger excès d'hydrosulfite qui indique que la réduction est complète. On constate dans ces conditions que la quantité de réducteurs nécessaire à la réduction totale de la méthémoglobine est égale à la moitié de celle nécessaire à la transformation quantitative de l'oxyhémoglobine en hémoglobine.

Devant ces faits, nous avions admis en 1925 qu'en assignant à l'oxyhémoglobine la formule schématique HbO^2, la méthémo globine devait avoir pour formule HbO.

L'interprétation alors adoptée doit aujourd'hui être regardée comme incertaine. En effet, les arguments sur lesquels elle est basée reposent sur l'équation d'oxydation de l'hydrosulfite de soude établie par *Schutzenberger* et *Risler* dans le cas de la réaction du réducteur avec l'oxygène dissous. Nous avons établi que cette équation s'applique à l'action de l'hydrosulfite de soude sur l'oxyhémoglobine. Mais, selon *Conant*, lorsque l'on offre à l'hydrosulfite de soude de l'oxygène combiné, sous formes d'oxydes métalliques par exemple, il s'oxyde suivant une équation toute autre, en fixant deux fois moins d'oxygène que dans le premier cas. Or la méthémoglobine réagirait avec l'hydrosulfite de soude non pas comme l'oxyhémoglobine, mais comme un oxyde métallique. Aussi, suivant *Conant*, lorsque *M. Nicloux* et moi avons cru soustraire à de la méthémoglobine un volume *a* d'oxygène (par l'emploi d'une solution d'hydrosulfite de soude titrée vis-à-vis de l'oxygène de HbO^2) nous n'enlevions en réalité qu'$\frac{1}{2}$ *a*, ce qui nous obligerait à assigner à la méthémoglobine la formule Hb^2O (*Conant*).

Il est actuellement difficile de décider quelle est la plus exacte de ces deux interprétations. Les vues de *Conant* se justifient avant par les arguments tirés de l'étude du potentiel

d'oxydo-réduction de solutions de méthémoglobine. Mais elles n'expliquent pas des faits, contrôlés par *Quagliariello* et par nous-mêmes, comme par exemple le dégagement de la moitié de l'oxygène de l'oxyhémoglobine lors de la transformation de ce pigment en méthémoglobine par l'action des acides. L'hypothèse et les nouveaux faits expérimentaux qui coordonneront ces observations restent encore à trouver.

b) *Sur le mécanisme de la méthémoglobinisation* in vitro.
[7, 11, 14, 15, 18]

M. Nicloux et moi avons étudié l'action méthémoglobinisante du ferricyanure de potassium sur l'oxyhémoglobine, et essayé d'établir l'équation de cette réaction, afin de fixer les quantités d'oxydant qu'elle met en jeu.

J'ai ensuite étudié l'action de l'hydroxylamine sur le pigment sanguin et essayé d'établir l'équation de la réaction. J'ai constaté que l'hydroxylamine se comporte à la fois comme agent méthémoglobinisant et comme réducteur de la méthémoglobine formée.

J'ai en outre étudié l'évolution dans le temps de la méthémoglobinisation du sang par l'alcool, l'huile d'aniline, la poudre d'aluminium ; cette dernière permet d'obtenir une transformation importante du pigment *in globulo*.

La différence entre la méthémoglobinisation *in* ou *extra globulo* ne parait plus devoir être retenue comme base d'une classification des agents méthémoglobinisants. (*G. Hayem*).

c) *Méthémoglobinisation* in vivo **[7, 63].**

Ces recherches ont porté sur l'action méthémoglobinisante de l'ingestion ou de l'injection d'aniline ou de triaminophénol.

1) Intoxication par l'aniline. — Chez le chien, la méthémoglobinisation du sang par l'aniline s'effectue, à doses et à températures égales, avec une vitesse beaucoup plus grande *in vivo* qu'*in vitro*. L'intoxication par ingestion d'une dose non mortelle provoque une méthémoglobinisation qui atteint en trois à cinq heures un maximum, regresse lentement et disparaît en vingt quatre heures. Dans l'intoxication mortelle, la mort survient lorsque 60 pour 100 environ du pigment sanguin ont été transformés en méthémoglobine. Étant donné que, dans l'intoxication oxycarbonée, un «bloquage» de la même proportion de pigment détermine la mort par une anoxémie (*Balthazard* et *Nicloux*) il est probable que, dans mes expériences, l'intoxication par l'aniline a provoqué la mort par le même mécanisme.

2) Intoxication par le triaminophénol. — L'injection intraveineuse d'une dose mortelle de ce poison provoque la mort instantanée des animaux, dont une faible partie du pigment sanguin est méthémoglobinisée. Au contraire l'injection intrapéritonéale des mêmes doses détermine une mort plus lente, la méthémoglobinisation portant alors sur les deux tiers environ du pigment sanguin. Aussi l'anoxémie doit elle, dans le second cas seulement (pénétration lente du poison dans les vaisseaux), être rangée parmi les causes de la mort.

HÉMOCHROMOGÈNES ET HÉMATINE **[7, 19, 20, 21].**

J'ai étudié la combinaison réduite et des hémochromogènes avec l'oxyde de carbone et l'oxygène.

Dans une première série d'expériences j'ai établi que l'hémochromogène oxycarboné, composé stable vis-à-vis du vide, se

décompose sous l'action des acides concentrés en libérant son oxyde de carbone. Cette propriété a permis d'établir une méthode de dosage du groupement prosthétique de l'hémoglobine, dont le principe est le suivant :On réduit le pigment par l'hydrosulfite de soude et on le sature d'oxyde de carbone. L'hémochromogène ainsi obtenu, placé dans le vide, est traité par l'acide phosphorique. L'oxyde de carbone dégagé quantitativement est dosé par eudiométrie. Toutes ces manipulations se font dans l'appareil de *Nicloux*.

Comme l'hématine ne se combine pas à l'oxyde de carbone, cette méthode permet de doser spécifiquement l'hémochromogène mélangé à l'hématine. La transformation de l'hématine en hématine réduite ou en hémochromogène exige dans les deux cas la même quantité d'hydrosulfite de soude. La combinaison du groupement prosthétique à un corps azoté n'entraîne donc aucune modification de la valence du fer qu'il contient. A égalité de teneur en fer, un même volume de solution d'hématine ou d'oxyhémoglobine nécessitent la même quantité d'hydrosulfite de soude pour réduire entièrement ces pigments, alors que la méthémoglobine en exige, la moitié moins pour une masse de pigment contenant autant de fer.

Si l'on s'en tenait à l'opinion de *P. Schutzenberger* sur l'oxydation de l'hydrosulfite de soude il faudrait admettre que la valence du fer est la même dans l'oxyhémoglobine et dans l'hématine. On a vu plus haut qu'une pareille interprétation doit actuellement être considérée comme incertaine.

Par ailleurs, l'hématine réduite et l'hémochromogène possèdent la même capacité de combinaison pour l'oxyde de car-

bone ,fait que des recherches de *R. Hill* ont récemment confirmé.

L'hématine, tant diacide que mono ou dibasique, exige pour être réduite la même quantité d'hydrosulfite de soude et, dans ces trois cas, elle se combine après réduction à la même quantité d'oxyde de carbone. Puisque la copulation de l'hématine avec la globine fait apparaître les propriétés spéciales de l'hémoglobine, tandis que la salification du groupement prosthétique ne modifie en rien ses propriétés primitives, il n'y a pas lieu d'admettre avec *Steudel* et *Peiser* que le groupement prosthétique, dans l'hémoglobine, est lié à la protéine par une simple salifica-
L'hémoglobine n'est pas, comme l'ont supposé ces auteurs,
teurs, un simple «hématinate de globine».

J'ai eu l'occasion au cours de ces recherches de m'élever contre le point de vue d'*Anson* et *Mirsky* faisant de l'hématine «une protéine conjuguée, forme oxydée de l'hémochromogène» et de montrer son inexactitude, laquelle a depuis lors été reconnue par l'école anglaise.

PIGMENTS DE SYNTHÈSE : CATHÉMOGLOBINE ET MÉTHÉMOGLOBINE.

[39, 59].

La synthèse de l'hémoglobine à partir du mélange d'hématine et de globine a fait l'objet de nombreuses recherches dont les résultats sont contradictoires. La possibilité de cette réaction, confirmée par *Ham* et *Balean, Steudel* et *Peiser, Anson* et *Mirsky* est, par contre, infirmée par *Menzies* et par *Haurowitz,* qui établissent que le spectre observé n'est pas celui de la méthémoglobine, mais celui de la cathémoglobine. Cette question a pris un

tout nouvel aspect à la suite des travaux de *Hill* et *Holden* et de *Keilin*. *Hill* et *Holden* ont montré que les préparations de protéine employées par leurs devanciers contenaient une globine «dénaturée» et ils ont donné un mode de préparation d'une globine «naturelle» qui, pour eux, est identique à celle qui fait partie de l'hémoglobine. Alors que la première, mélangée à une solution d'hématine neutre, donne de la cathémoglobine, la seconde donne, dans les mêmes conditions, de la méthémoglobine qu'on peut réduire en Hb, puis transformer en HbO^2. *Keilin* a confirmé ces expériences de *Hill* et *Holden*.

Je suis arrivé à la conclusion ferme que les mélanges d'hématine dissoute (de pH = 7,5 à 9) et de globine, en solution (à pH = 8,5), ou précipitée (à pH = 8 - 7,5) présentent, après quelques heures de séjour à 0°, un spectre voisin de celui d'HbO^2. Lorsqu'on fait agir sur ces mélanges l'hydrosulfite de soude, le spectre de l'hémochromogène apparaît. Donc le mélange d'hématine neutre ou alcaline et de globine (préparée suivant les procédés de *Schultz* ou de *Van Klaveren*) conduit à la cathémoglobine. Mais cette combinaison parait spécifique de la globine, car je n'ai pas pu l'obtenir avec d'autres protéines (thymohistone, nucléohistone, clupéine, salmine, protéine de l'hémocyanine, caséine, ovalbumine, sérumalbumine, sérumglobuline).

J'ai ensuite reproduit le travail — résumé plus haut — de *Hill* et *Holden* : l'exactitude des observations des auteurs anglais est à mes yeux indiscutable. J'ai réalisé la formation du complexe à spectre de méthémoglobine avec des hématines de cheval, de bœuf, d'homme, de poule et des globines d'homme, de cheval, de bœuf, de porc, de mouton, de lapin. Dans tous ces cas, la combinaison se fait avec une égale facilité.

Ce pigment de synthèse est bien de la méthémoglobine, car j'ai observé qu'il donne naissance : a) par addition de NaF à de la fluorométhémoglobine, b) par réduction, puis agitation à l'air à de l'oxyhémoglobine ; c) par réduction puis agitation au contact de CO, à de la carboxyhémoglobine. Les gaz fixés sur ces deux dernières combinaisons ont été isolés et caractérisés.

B. RECHERCHES SUR LES SUBSTANCES RÉDUCTRICES, LES COMBINAISONS PHOSPHORÉES ET LA GLYCOLYSE DU SANG.

1. — SUBSTANCES RÉDUCTRICES DU SANG.

Une partie de ces recherches a été faite en collaboration avec le Professeur *R. Ege* de Copenhague.

a) *Sur le «reste de fermentation» et sur les glucides globulaires du sang humain.* **[49, 50, 51, 52, 59].**

Nous avons étudié [1] la valeur de la glycémie, du «reste de fermentation» et du «reste de glycolyse» dans le sang total, les globules et le sérum du sang défibriné, en utilisant sur divers échantillons d'un même sang les méthodes de *Fontès* et *Thivolle* (défécation tungstique) et de *Hagedorn* et *Jensen* (défécations tungstique et zincique). La comparaison des résultats obtenus montre que l'on dose ainsi des quantités différentes de substances réductrices dans le sang, même lorsqu'on opère avec la

[1] A l'aide d'une technique mettant en œuvre de la levure en quantités minimes, se prêtant bien à la défécation, et n'apportant avec elles que des traces de substances réductrices.

même méthode, sur des filtrats de déprotéinisations différentes. La glycémie dosée par la méthode de *Hagedorn* et *Jensen* sur un filtrat de défécation tungstique est plus élevée que celle dosée par la méthode de *Fontès* et *Thivolle* sur le même filtrat, mais la valeur de la glycémie obtenue dans ce dernier cas est supérieure à celle dosée dans le filtrat de défécation zincique par la méthode de *Hagedorn* et *Jensen*. La cause de ces différences demeure actuellement obscure.

Dans le sang total, le «reste de fermentation» déterminé par la méthode de *Hagedorn* et *Jensen* est de l'ordre de 0,015 gr. de substances réductrices exprimées en glucose pour 100 cc. de sang, dans les filtrats de défécation zincique et d'environ 0,030 gr. pour 100 cc. de sang dans les filtrats de défécation tungstique. Il est, dans ces mêmes filtrats, de l'ordre de 0,004 gr. pour 100 cc. de sang, lorsqu'on emploie la méthode de *Fontès* et *Thivolle*. Ces différences expliquent pour une part les discordances entre les résultats ou l'opinion de nombreux auteurs sur la grandeur et sur l'existence même du reste de fermentation du sang.

Le taux des substances réductrices non glycolysables du sang est du même ordre de grandeur que celui du reste de fermentation, et les substances réductrices non glycolysables ne sont pas fermentescibles.

Le taux du reste de fermentation n'est influencé ni par le jeûne, ni par l'exercice, ni par l'injection d'insuline. Cette constance nous a conduit à penser que ce reste se trouve principalement dans les hématies, dont la composition est en général moins variable que celle du plasma. Nos résultats et ceux publiés simultanément par *Somogyi* montrent qu'il en est bien ainsi, quelle que soit la méthode de dosage employée. Notons à ce propos

que la quasi-totalité du reste de fermentation accessible à la méthode de *Fontès* et *Thivolle* est contenue dans les globules.

Les substances réductrices du globule rouge humain sont constituées par deux fractions, l'une fermentescible et diffusible (glycose), l'autre non diffusible et non fermentescible (reste de fermentation) représentant environ 25 pour 100 du pouvoir réducteur des globules dosé par la méthode de *Hagedorn* et *Jensen*.

Des expériences sur la perméabilité de l'hématie humaine *in vitro*, ont montré que le glucose du globule humain est complètement diffusible et qu'il n'existe pas de glucose adsorbé à la paroi globulaire comme l'avaient suggéré *R. Ege* et *K. M. Hansen* et admis d'autres biochimistes.

Nous estimons avec la majorité des auteurs que, chez l'homme, à l'état normal, le «sucre sanguin» dosé par la méthode de *Hagedorn* et *Jensen* sur filtrat de défécation zincique est également réparti entre les globules et le plasma. Or, si la diffusion du glycose à travers la membrane globulaire réglait seule cette répartition il n'en serait pas ainsi, car la teneur en eau des globules est inférieure d'environ 15 à 20 p. 100 à celle du plasma et il devrait en être de même du taux des substances réductrices.

L'existence d'un reste de fermentation plus élevé dans les globules que dans le sérum, non diffusible des premiers vers le second, permet de comprendre pourquoi, malgré la moindre teneur en eau des globules, leur pouvoir réducteur est du même ordre de grandeur que celui du sérum (ou du plasma). En effet, la répartition du glucose dans les divers éléments du sang humain se fait suivant les lois de la diffusion. Sa concentration est donc identique dans les phases aqueuses du globule et du sérum ; par contre, le reste de fermentation est plus élevé dans les

globules que dans le plasma ; aussi les substances réductrices totales (glucose + reste de fermentation) sont-elles également réparties entre les deux phases du sang.

b) *Participation de corps phosphorés au pouvoir réducteur du sang* **[64]**.

Le «reste de fermentation» des hématies, riches en combinaisons phosphorées acidosolubles, est beaucoup plus élevé que celui du sérum ou du liquide céphalo-rachidien (*Bigwood* et *Wuillot*) très pauvres en phosphore combiné. J'ai constaté que celui du corps vitré de l'œil, milieu pratiquement dépourvu de combinaisons phosphorées organiques, est aussi très faible, (0,003 gr. pour 100 avec la méthode de *Hagedorn* et *Jensen* après défécation zincique). Au contraire, ce reste est particulièrement élevé dans certaines hématies exceptionnellement riches en phosphore acidosoluble, celles du pigeon par exemple.

Des expériences faites avec l'acide adénylique, nucléotide présent dans les hématies (*Hoffmann*) montrent que ce corps, partiellement hydrolysé au cours des manipulations nécessaires au dosage du glucose sanguin (*Hagedorn* et *Jensen*), participe à la glycémie et au reste de fermentation. Comme ce corps n'est pas déféqué par l'acide tungstique et l'est par l'hydrate de zinc il est probable qu'il est en partie la cause de l'excès de la «glycémie tungstique» sur la «glycémie zincique». Il constitue 8 à 10 pour 100 du reste de fermentation du sang humain et 20 pour 100 de ce même reste dans le sang de pigeon.

L'acide diphospho α-cétotrioxyadipique (*Posternak*) doit également participer au reste de fermentation des globules, mais pour une part actuellement indéterminée.

Il en est de même de quantités minimes d'acides hexose-phosphoriques et glycuronique.

2. — COMBINAISONS PHOSPHORÉES («PHOSPHORE ACIDOSOLUBLE») ET CONSTITUANTS ÉLÉMENTAIRES DES FILTRATS DE SANG DÉPROTÉINISÉ.

Afin de poursuivre la séparation des diverses combinaisons phosphorées des filtrats sanguins, dont l'ensemble est en général désigné sous le nom de «phosphore acidosoluble» du sang, j'ai été amené à étudier les constituants élémentaires en particulier le carbone des filtrats de sang déféqué.

a) *Carbone total des filtrats de sang déféqué* **[42, 47]**.

Je l'ai étudié à l'aide d'une application de la microméthode de *Nicloux* **[46]**. Voici les faits observés :

A de rares exceptions près, la teneur en carbone total et le rapport C/N des filtrats sanguins présentent chez les sujets d'une même espèce le même ordre de grandeur.

Le sang humain contient environ 1,2 à 1,5 gramme de carbone non précipitable par les réactifs de défécation (sels de mercure ou acide phosphotungstique) et le rapport C/N des filtrats est d'environ 4,2.

La teneur en carbone des globules est plus élevée que celle du sérum ,mais le rapport C/N est légèrement plus élevé dans le sérum que dans les globules.

Le carbone des divers composés actuellement dosables dans les filtrats de sang déprotéinisé (glucose, acides lactique et urique, urée, créatine et créatinine, acides aminés) ne représente que

70 pour 100 au plus du carbone total, comme l'avait déjà signalé *W. Stepp*.

b) *Sur la séparation des constituants du «phosphore acido-soluble du sang* **[64]**.

Dans les filtrats de sang déféqué concentrés dans le vide à 30°, l'addition de baryte à saturation provoque la précipitation de 15 à 20 pour 100 du carbone, de 10 pour 100 de l'azote et de la presque totalité du phosphore. Les combinaisons phosphorées ainsi précipitées peuvent être séparées en bloc de leur solution chlorhydrique sous forme de composé plombiques à partir desquels j'ai pu préparer l'acide diphosphoglycérique (précédemment isolé par *Greenwald, Machebœuf, Jost*) et l'acide adénylique (isolé pour la première fois par *Hoffmann* et, après lui par de nombreux auteurs).

La plus grande partie des substances précipitables par la baryte dans les filtrats sanguins n'est pas constituée, comme l'a avancé *Deutschberger,* par des acides oxyprotéiques, mais par diverses combinaisons phosphorées.

Le pouvoir réducteur des substances précipitées par la baryte n'est pas dû exclusivement aux acides hexosephosphoriques (*Lawaczek*). Ces substances comprennent en effet, entre autres composés réducteurs, du glycose et de l'acide glycuronique. Les «dosages de lactacidogène» faits dans le sang par *Lawaczek* en dosant le pouvoir réducteur des substances précipitables par la baryte sont donc sans valeur.

Il existe vraissemblablement des traces d'un acide hexophosphorique dans le sang (2 à 3 pour 100 des substances réductri-

ces, 5 à 10 pour 100 du reste de fermentation et 5 pour 100 du phosphore acidosoluble au plus). L'osazone de ce corps n'a pu être obtenue à l'état pur, mais des osazones phosphorées ont été préparées à partir des constituants sanguins précipitables par la baryte.

Le phosphagène n'a pas pu être décelé dans le sang.

Le sang contient des pyrophosphates en petite quantité (environ 1 mgr P. pour 100 cc.); j'en ai isolé à l'état pur suivant la technique de *Lohmann*.

La fraction des substances précipitées par la baryte insoluble dans l'acide chlorhydrique à 10 pour 100 contient une combinaison phosphorée nouvelle, non identifiée contenant par atome de phosphore un atome d'azote et sept ou huit atomes de carbone. Cette substance — ou ce mélange de substances — contient 6 à 8 pour 100 du phosphore acidosoluble. Sa constitution est actuellement à l'étude.

3. — RECHERCHES SUR LA PARTICIPATION D'UNE COMBINAISON PHOSPORÉE A LA GLYCOLYSE DU SANG [**35, 36, 45**].

Elles ont été faites en collaboration avce *Andrée Roche*. Leur but était d'établir si la glycolyse du sang *in vitro* comporte la participation d'une combinaison phosphorée.

L'action favorisante d'une addition de phosphates sur la glycolyse du sang *in vitro* a, dès sa découverte, suggéré à von *Euler*, à *Rona* l'idée que la glycolyse doit être reliée à la formation d'un éther phosphorique du glucose ou de l'un de ses produits de dégradation : Les divers auteurs qui, avant nous,

ont essayé de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse sont en complet désaccord sur sa validité, comme il ressort des travaux de *Bierry* et *Moquet*, *Morgulis* et *Barkus*, *Irwing*, *Rona* et *Iwasaki*.

Nous avons repris l'étude de ce problème en faisant porter nos recherches sur la glycolyse et sur les variations simultanées des phosphates dans le sang de chien soumis à diverses conditions expérimentales où la glycolyse est normale, accrue, diminuée ou arrêtée, afin d'établir l'existence ou la non existence d'un rapport entre l'action de l'enzyme glycolytique et celle de la phosphatase. Voisi le résumé des expériences poursuivies et des résultats obtenus :

1) Dans 45 courbes horaires de glycolyse à 38°, on a noté : dans 29 cas une diminution nette des phosphates au cours des trois premières heures d'étude, dans 7 cas une absence presque totale de variations, dans 9 cas une légère augmentation des phosphates. Après la troisième heured'étude, les phosphates ont augmenté de façon importante dans chaque sang. Or, c'est dans les trois premières heures que la glycolyse est la plus intense.

Dans la plupart des cas, dans les conditions où nous avons opéré tout au moins, on saisit directement la synthèse d'une combinaison phosphorée simultanée au début de la glycolyse. Mais les observations qui ne sont pas par elles mêmes démonstratives à cet égard ne peuvent pas non plus permettre de conclure que cette synthèse n'a pas lieu. En effet, ce que l'on saisit par les variations de la phosphatémie est la *résultante* de deux réactions, l'une fixant des phosphates par synthèse de composés phosphorés, l'autre libérant des phosphates par dégradation de combinaisons, qui ne sont pas forcément les mêmes que les premières.

Dès lors, si l'existence d'une diminution des phosphates du sang au cours de la glycolyse peut être tenue pour une synthèse de combinaisons organiques de l'acide phosphorique, la constatation d'une augmentation des phosphates du sang ne signifie pas nécessairement que la réaction de synthèse n'ait pas lieu. Les auteurs qui ont abordé avant nous ce problème n'ont pas envisagé cette conception : ils ont conclu à la synthèse ou à la dégradation de combinaisons phosphorées suivant qu'ils constataient une diminution ou une augmentation des phosphates du sang et il faut voir dans ce mode de raisonnement l'origine de leur divergence absolue d'opinion.

Ce qui ressort de cette première série d'expériences est la simultanéité de la diminution des phosphates ou de leur augmentation minima dans la période où la glycolyse est le plus intense.

2) L'apparition de la glycolyse dans un sang où elle ne s'exerçait pas (sang placé d'abord à $+2°$, puis à 38° ; ou sang glycolysé aseptiquement par un séjour de 16 heures à 38°, puis additionné de glycose) y provoque les variations du taux des phosphates notées au cours de la glycolyse du sang normal.

3) L'augmentation de la glycolyse et son accélération (addition de glucose et addition de phosphates) augmente la fixation de l'acide phosphorique libre constatée en général dans les premières heures de séjour du sang normal à 38°.

4) L'action favorisante des phosphates sur la glycolyse présente un seuil pour l'addition d'une certaine quantité de ces corps. L'existence même de ce seuil donne à penser que l'action des phosphates doit être limitée par la concentration d'un constituant du sang. Or l'addition de glucose permet de dépla-

cer le seuil de l'activation par les phosphates, la quantité de ceux-ci nécessaire pour atteindre ce seuil étant d'autant plus grande que la glycémie a été plus fortement augmentée par l'addition de glucose. Pareil fait ne s'explique bien que par la formation d'une combinaison de l'acide phosphorique avec le glucose ou l'un de ses produits de dégradation.

5) Le ralentissement de la glycolyse par addition à du sang d'oxalates alcalins et son arrêt par addition de fluorure, déterminent :le premier une diminution, le second une abolition des variations des phosphates notées dans le sang normal au cours de la glycolyse. L'addition de chlorure de calcium à du sang défibriné détermine une augmentation du taux des phosphates importante et continue au cours de la glycolyse qui demeure normale. Lorsqu'on introduit du chlorure de calcium dans du sang défibriné, oxalaté ou fluoré l'on y fait reparaître la glycolyse et des variations du taux des phosphates identiques à celles notées dans le sang normal au cours de ce processus.

L'étude systématique des phénomènes provoqués par l'addition de sels de calcium au sang, normal, oxalaté ou fluoré a permis d'établir que ce métal est indispensable à la glycolyse et à l'action synthétisante de la phosphatase, tandis qu'il favorise l'action dégradatrice de cette dernière sans lui être indispensable.

Comme, par ailleurs, l'addition de citrates alcalins est sans action sur la glycolyse et sur les variations des phosphates du sang qui l'accompagnent, nous admettons en nous basant sur les recherches de *Stewart* et *Percival*, que c'est la partie non ionisée du «calcium diffusible» du sang qui intervient dans l'action de la phosphatase et de l'enzyme glycolytique.

L'ensemble de ces expériences légitime l'hypothèse de la participation d'une combinaison phosphorée, dont la nature reste à préciser, à la glycolyse du sang *in vitro*.

Accessoirement au cours de ce travail nous avons établi que le sang ne saurait contenir du méthylglyoxal qu'à l'état de traces et que ce corps ne se forme vraissemblablement pas au cours de la glycolyse.

II. PHYSICO-CHIMIE DES PROTEINES.

A. — Recherches sur la globine de l'hémoglobine [53, 54, 59].

J'ai étudié les propriétés physico-chimiques de la globine, leurs variations au cours de la dégradation de cette protéine par action des acides, des bases, des protéases, et l'hydrolyse trypsique ou pepsique de ce corps .

Les travaux de *R. Hill* et *R. Holden* (1926) ont établi que la décomposition de l'hémoglobine par l'action des acides dilués conduit à la «globine dénaturée» (que je propose de nommer paraglobine, car elle ne présente pas les caractères des protéines «dénaturées»), si l'on opère à température ordinaire, tandis que la protéine résultant du même traitement de l'hémoglobine effectué à 0° est la «globine naturelle» (que j'appelerai simplement «globine»). La globine est apte à se combiner avec l'hématine alcaline pour régénérer la methémoglobine, elle perd cette propriété en se transformant en paraglobine. L'exactitude de ces résultats une fois contrôlée, le but principal de mon travail a été de rechercher, si la disparition de la capacité de combinaison de la globine avec l'hématine lorsqu'elle se transforme en paraglobine se traduit par une modification des propriétés, de la protéine. Une telle constatation pourrait donner de précieuses indications sur les fonctions chimiques de la protéine qui, dans l'hémoglobine, entrent en combinaison avec le groupement prosthétique. J'ai dû, pour atteindre ce but étudier les propriétés physico-chimiques de la globine et de la paraglobine.

Dans une première partie de mon travail j'ai établi des méthodes de préparation de ces protéines qui permettent d'en obtenir des quantités importantes en solution concentrée. Ces méthodes largement inspirées de celles de *Hill* et *Holden* ont pour principe la décomposition de l'hémoglobine en globine par action d'une quantité minime d'acide chlorhydrique, l'élimination au moyen de Kieselguhr en milieu éthéré de l'hématine libérée, et la concentration de la protéine par précipitation au moyen du sulfate d'ammoniaque suivie de la dissolution du précipité dans la quantité minima d'eau. Ces manipulations faites dans une chambre refroidie à 0°, tous les liquides manipulés étant amenés à la limite de la congélation par immersion des récipients dans un bain de saumure à —10° environ, permettent d'obtenir la globine. En opérant à la température ordinaire, avec un petit excès d'acide chlorhydrique, on obtient la paraglobine.

a) *Propriétés physico-chimiques de la globine et de la paraglobine.*

La globine du porc a un point isoélectrique unique qui, déterminé par cataphorèse, est à pH = 7,5—7,6. La courbe de neutralisation de solutions de globine, établie au moyen de l'électrode d'antimoine (*Vlès* et *Vellinger*) a permis de construire la courbe de pouvoir tampon de la globine en fonction du pH. Cette dernière courbe présente deux minima, l'un de pH = 4 à pH = 5, l'autre, étroit, au point isoélectrique, à pH = 7.5. La globine ne présente pas de minimum de solubilité entre pH = 5 et pH = 10.

La paraglobine du porc a un point isoélectrique unique à pH = 7,6—7,8 (cataphorèse). Les courbes de neutralisation et de

pouvoir tampon de ses solutions présentent sensiblement la même allure que celles de la globine naturelle. Elle présente un minimum de solubilité (déterminé par dosage de l'azote dans la fraction soluble des échantillons placés 24 heures à température constante, en solution pure de pH = 6.6 à 8.4 pour une concentration en protéine de 0.5 gr p. 100. Ces caractères sont constants dans des conditions d'observations déterminées. La variabilité du minimum de solubilité de la globine dans les diverses préparations, signalée par *F. Haurowitz* et *H. Waelsch*, tient à une dégradation de la protéine, de degré variable, au cours de leurs expériences.

Le fait que la globine possède un point isoélectrique plus élevé que celui de l'hémoglobine indique probablement que des fonctions basiques ($—NH^2$) de cette protéine sont combinées à l'hématine dans le pigment sanguin.

Les globines des divers mammifères ne présentent pas de différences accessibles aux techniques mises en œuvre.

b) *Variations des propriétés de la paraglobine sous l'influence de l'action des acides et des bases.*

Une courte ébullition de la paraglobine en milieu acide (pH = 2 à 4) ne modifie si son point isoélectrique, ni sa solubilité. Au contraire, une courte ébullition à pH = 7,0, où la paraglobine est floculée, détermine une transformation irréversible de la protéine qui n'est plus alors soluble que dans des milieux fortement acides ou alcalins. C'est à cette protéine pratiquement insoluble qu'il vaut mieux réserver le nom de «globine dénaturée». La zone de floculation irréversible, sous l'action

de la chaleur peut être élargie de plusieurs unités de pH par addition de sels neutres aux solutions. En milieu alcalin, une courte ébullition provoque en décalage du point isoélectrique pouvant passer de pH = 7,7 à pH = 6,6. Cette variation va de pair avec une augmentation du pouvoir tampon de la paraglobine, surtout marquée aux pH inférieurs à 9. Lorsque l'action de NaOH se prolonge, il y a mise en liberté de produits solubles (peptones ou polypeptides) et de petites quantités d'ammoniaque.

Toutes ces modifications s'effectuent également à la température ordinaire, mais dans un temps plus long. Ce sont elles qui ont fait croire à *Haurowitz* et *Waelsch* que la paraglobine ne présentait pas toujours le même minimum de solubilité.

c) *Action des protéases sur la paraglobine.*

La pepsine a un optium d'action sur la paraglobine à pH = 2,2, et la trypsine à pH = 8,2, et cela contrairement aux données établies par *Northrop*, pour qui l'action de la trypsine sur la globine ne comporte pas l'optimum.

La trypsine n'agit sur la paraglobine qu'en présence de kinase.

L'action de la pepsine sur la paraglobine libère de -COOH (titrés selon *Willstätter*) et des $-NN^2$ (titrés selon *Van Slyke*) en quantité telle que le rapport : $\frac{\text{-COOH libérés}}{\text{-NH}^2\text{ libérés.}}$ est voisin de 1.

Cette action doit donc se borner à l'hydrolyse de liaisons du type peptidique. Pareille observation a été faite antérieure-

ment par de nombreux auteurs, en particulier par *S. P. L. Sörensen* et *L. Katschioni-Walther* dans le cas de l'action de la pepsine sur des protéines du groupe des albumines et par *K. Felix* et *A. Harteneck* lors de la digestion pepsique de la thymohistone.

Le premier temps de l'action de la pepsine et de la trypsine sur la paraglobine détermine des modifications de cette protéine se traduisant par une variation du point isoélectrique vers les pH acides. On note en effet, au début de l'action des protéases étudiées un déplacement du minimum de solubilité de la protéine vers les pH bas. Ce décalage peut porter, dans les cas extrêmes sur deux unités de pH.

Ce phénomène, de même ordre que celui noté dans l'action de l'ion OH^- sur la paraglobine suggère l'idée que les hydrolyses alcaline et enzymatique doivent, *à leur début*, s'effectuer suivant un mécanisme identique. Étant donné que dans le cas de l'hydrolyse pepsique tout au moins, il est concomitant à une libération de —COOH et de —NH^2 en nombre égal, il signifie que les COOH libérés sont plus fortement dissociés que les fonctions basiques simultanément libérées.

B. — RECHERCHES SUR LES HÉMOCYANINES [**57**].

Les hémoglobines des divers animaux prétentent des propriétés physico-chimiques très voisines. Celles des hémocyanines des divers invertébrés présentent au contraire de notables différences sur lesquelles les travaux de *Redfield* et de son école, de *E. Stedmann* et *E. Stedmann* ont attiré l'attention.

a) *Propriétés physico-chimiques des hémocyanines du Poulpe et de la Limule.*

Dans de premières recherches j'ai étudié les caractères physico-chimiques des hémocyanines de deux espèces animales zoologiquement très éloignées : le poulpe (mollusque : *octopus vulgaris*) et la limule (trilobite : *limulus polyphenus*). La première n'avait fait l'objet d'aucune étude physico-chimique antérieure, la seconde avait été bien étudiée par *Redfield* à des points de vue différents de celui auquel je me suis attaché.

L'étude de l'hémocyanine de la limule présente un intérêt particulier, car le limulus est un animal de type archaïque, en voie de disparition, chez lequel, suivant *Dhéré,* on pouvait a priori s'attendre à trouver une hémocyanine très différente de celle des animaux de la faune moderne, comme le poulpe.

La cataphorèse de l'hémocyanine du limulus a montré que cette protéine a un point isoélectrique unique à pH = 6,2. Celui du pigment sanguin du poulpe est, par contre, à pH = 4,8, soit voisin de celui des hémocyanines des crustacés modernes (établi par *E. Stedmann* et *E. Stedmann*). Les deux hémocyanines étudiées possèdent chacune un minimum de solubilité correspondant dans l'échelle de pH à leur point isoélectrique. Les courbes de neutralisation de leurs solutions pures ont en outre permis d'établir les courbes de pouvoir tampon de ces corps en fonction du pH. Dans l'un et l'autre cas, les courbes de pouvoir tampon ont présenté deux minima, l'un correspondant aux points isoélectriques respectifs des protéines étudiées et l'autre situé à pH = 7,8 pour l'hémocyanine du poulpe, et à pH = 9,0 pour l'hémocyanine du limulus.

Ce dernier pigment se différencie donc nettement du premier et aussi, selon, les recherches de *E. Stedmann* et *E. Stedmann,* de toutes les hémocyanines étudiées chez les animaux zoologiquement moderne. Peut-être faut-il voir là la conservation d'un type archaïque de pigment sanguin de certains invertébrés.

J'ai en outre essayé de me rendre compte si les hémocyanines contiennent, comme les hémoglobines un groupement prosthétique métallique fixé à la «partie protéique» de la molécule.

b) *Sur le groupement prosthétique des hémocyanines.*

Dans les conditions où l'hémoglobine se décompose en hématine et en globine, — en particulier par l'action des acides dilués — l'hémocyanine perd son cuivre. Y a-t-il libération de cuivre ionisé ou d'un groupement prosthétique cuivrique? Aucun des arguments apportés jusqu'ici en faveur de l'existence d'un tel groupement dans les hémocyanines n'emporte la conviction. Or, dans la transformation de l'hémoglobine en globine et en hématine, le pigment sanguin, de point isoélectrique 6.7 donne naissance à une protéine de point isoélectrique 7.5, et cela du fait de la mise en liberté du groupement prosthétique.

L'expérience a montré, dans les cas des deux hémocyanines étudiées, que ni le point isoélectrique, ni le pouvoir tampon, ni la solubilité des protéines ne présentaient de variation notable, après avoir été portées à $pH = 2$ pendant 1 heure, opération qui en détache le cuivre et leur fait perdre toute capacité de combinaison avec l'oxygène. Les hémocyanines se comportent donc à cet égard différemment des hémoglobines et il est peu vraisemblable qu'elles possèdent un groupement prosthéti-

que analogue à l'hématine. J'adopte l'opinion de *Henze* qui en fait des «protéinates de cuivre».

C. — RECHERCHES SUR LE CORPS VITRÉ DE L'ŒIL.

Ces recherches ont été faites en collaboration avec *P. Reiss*. Nous n'en avons jusqu'ici publié que de brefs résumés [**61, 62**].

a) *Le système tampon du corps vitré. Ses constituants.*

Le corps vitré présente d'importantes variations de volume lorsqu'il subit des modifications minimes de son pH (*Redslob* et *Reiss*), lesquelles sont, de toute évidence, sous la dépendance du pouvoir tampon. Nous avons d'abord établi la courbe de neutralisation du corps vitré et calculé à partir de celle-ci la courbe de pouvoir tampon en fonction du pH. Puis, nous avons séparé et identifié les constituants du corps vitré doués d'un pouvoir tampon. Notre conclusion est que le corps vitré est un système tampon à trois constituants : l'acide carbonique et deux protéines, l'une de point isoélectrique à pH = 3.5 et constituant environ les deux tiers des protéines du corps vitré, l'autre de point isoélectrique à pH = 9,5. Ces protéines ont pu être séparées par précipitation isoélectrique ; nous avons étudié leur transport électrique (cataphorèse), leur pouvoir tampon (courbe de neutralisation), et leur solubilité en fonction du pH.

La notion généralement admise de l'existence d'une albumine et d'une globuline dans le corps vitré a été infirmée. Nous avons en effet démontré que la précipitation de protéines du corps vitré par le sulfate d'ammoniaque à demi-saturation ou à

saturation ne permet de séparer que des mélanges des protéines du corps vitré dans nous venons de préciser les caractères.

Étant données les valeurs des points isoélectriques des protéines présentes, l'étendue restreinte de leur zone de pouvoir tampon (aux concentrations présentes dans l'œil) de pH = 4,5 à pH = 8, l'acide carbonique est, chez l'animal vivant, la seule substance possédant un pouvoir tampon important aux pH physiologiques. Par ailleurs, cet acide — dont le corps vitré contient des quantités de même ordre de grandeur que celles du sérum — provient du CO^2 sanguin (diffusion). Aussi le pH du corps vitré doit-il suivre librement les variations de la réaction du sang.

b) *Le système oxydo-réducteur du corps vitré.*

Le corps vitré contient une substance susceptible de participer à un équilibre oxydo-réducteur. Nous l'avons mise en évidence par l'étude du pouvoir tampon de *r*H soit au cours de la réduction du corps vitré par l'hydrosulfite de soude ou la phénosafranine réduite, soti au cours de l'oxydation par le ferricyanure de potassium. L'effet tampon de *r*H observé correspond à un potentiel légèrement différent d'un échantillon à l'autre, se groupant autour des deux valeurs de + 135 et + 170 millivolts par rapport à l'électrode à H^2 normale et à un *p*H de 7—8. Nous n'avons pu attribuer cette action tampon à aucun des constituants cristalloïdes connus du corps vitré, et nous recherchons actuellement si une protéine n'y participe pas.

Le niveau de potentiel de ce pouvoir tampon est nettement supérieur au potentiel d'oxydo—réduction du corps vitré normal ;

aussi les substances intervenant dans son équilibre sont-elles à l'état réduit chez l'animal vivant où elles s'opposent à une élévation du potentiel par apport d'oxygène.

III. BIOCHIMIE DE LA NUTRITION.

A. — RECHERCHES SUR LE MÉTABOLISME DES TISSU IN VITRO.

Ces recherches commencées en 1923 dans le laboratoire de Physiologie générale de la Faculté des Sciences de Strasbourg ont été faites sous la direction et, en partie, en collaboration avec le Professeur *E. F. Terroine*.

a) *Consommation en oxygène des tissus d'homéothermes* in vitro [**2, 4, 6**] L'intensité du métabolisme de base présente des différences considérables chez les animaux homéothermes des diverses espèces. Pour certains physiologistes, les écarts observés sont sous la dépendance d'une «masse active» des tissus, pour les autres, ils ont une cause extérieure aux tissus, nerveuses (*Richet*) ou circulatoire (*Terroine*). Pour les premiers, les combustions des organismes au métabolisme de base dépendent donc des propriétés de la «masse active» (composition chimique, structure) ; pour les seconds, la «masse active ne fait qu'exécuter des ordres qui viennent d'ailleurs». Afin de soumettre à l'expérience ces opinions, le Professeur *Terroine* et moi avons étudié l'intensité respiratoire *in vitro* des tissus homologues de divers homéothermes adultes de productions caloriques très éloignées : si les causes des différences dans l'intensité du métabolisme de base tiennent à la «masse active» on doit retrouver ces écarts dans la respiration des tissus *in vitro*, soustraits à toute influence nerveuse ou circulatoire. Dans le cas contraire, les tissus homologues des divers homéothermes doivent présenter des échanges gazeux voisins.

Dans une première partie du travail nous avons établi une technique de mesure de la respiration des tissus à l'aide du microrespiromètre de *Krogh*. Cette méthode permet de suivre de minute en minute la consommation d'oxygène d'un fragment de tissu de 0,1 gramme environ.

Les tissus homologues (cerveau, foie, rein, muscle) d'homéothermes, (lapin, poulet, cobaye, pigeon, souris, veuve à collier d'or) séparés entre eux par des différences considérables de production calorique (3 à 5 calories par kilogramme heure pour le lapin et 35 à 40 pour la veuve) présentent une intensité respiratoire du même ordre de grandeur :Il faut donc rechercher en dehors des tissus eux-mêmes les causes qui provoquent les différences observées dans la grandeur du métabolisme de base chez les divers animaux.

La grandeur de la respiration élémentaire d'un tissu, indépendante de l'espèce animale d'où provient le tissu, est, par contre, caractéristique de l'espèce cellulaire considérée, comme l'est également la composition chimique en ce qui regarde les constituants permanents : eau, protéides, phosphatides, (*A. Meyer* et *G. Schaeffer*).

b) *Sur l'action de la température sur la respiration des tissus d'homéothermes et de poikilotherme* in vitro. [**27, 28**].

Un tissu d'homéotherme (muscle de pigeon) et un tissu de poikilotherme (muscle de grenouille)isolés de l'organisme augmentent leur consommation d'oxygène au fur et à mesure que la température du milieu augmente, et celà jusqu'à une température critique de 43° à 45° pour le muscle de pigeon et de 32° à 34° pour le muscle de grenouille température à laquelle la respiration

cesse rapidement. Le tissu isolé d'homéotherme ne présente pas d'ébauche de régulation des échanges, laquelle (*Richet, Terroine*) doit être considérée comme un mécanisme extracellulaire. Un tissu de poikilotherme isolé présente un accroissement de ses échanges en fonction de la température, d'une valeur sensiblement identique à celle qu'on observe dans les mêmes conditions sur l'animal total. C'est là la preuve d'une absence totale de régulation extracellulaire chez les poikilothermes.

L'amplitude des variations de l'intensité respiratoire pour un même écart thermique est plus grande pour un tissu d'homéotherme que pour un même tissu de poikilotherme. La régulation des combustions de celui-ci paraît basée uniquement sur des facteurs cellulaires dont les principaux sont : la lenteur de la mise en équilibre avec la température extérieure (*Richet*) et la faiblesse des variations des échanges gazeux des tissus en fonction de la température.

c) *Sur la consommation en oxygène du sang* in vitro.

[33, 35].

Ces recherches, publiées en collaboration avec *Mme E. Siegler-Soru*, ont pour objet l'étude de la consommation en oxygène du sang de diverses espèces animales à hématies nucléées ou anucléées. Nous avons observé les faits suivants : La consommation en oxygène du sang de divers homéothermes adultes (cheval, bœuf, porc, chien, lapin, cobaye, dindon, oie, canard, poulet, pigeon) présente une constance intraspécifique relative et des différences interspécifiques importantes. A égalité de globules, les sangs à hématies nucléées consomment plus d'oxygène que

ceux à hématies anucléées, comme l'avait déjà établi *Warburg*. Mais, à égalité de volume certains sangs à globules rouges anucléés, peuvent présenter une consommation d'oxygène plus intense que d'autres à globules nucléés. C'est ainsi qu'en général le sang de cobaye, par exemple, consomme plus d'oxygène que le sang d'oie.

Si l'on classe en deux groupes distincts et par ordre de consommations en oxygène croissante les sangs à hématies nucléées et anucléées, l'ordre des divers animaux ainsi obtenu correspond, à quelques exceptions près, à celui des mêmes animaux rangés par productions caloriques croissantes. Mais il n'existe pas de proportionalité entre l'intensité respiratoire du sang d'un animal et sa production calorique.

Les importantes différences interspécifiques de consommation en oxygène du sang *in vitro* s'opposent à la quasi-identité des échanges gazeux des autres tissus d'homéothermes. Elles s'expliquent aisément par le fait que chez ces derniers le sang est le seul tissu dont le métabolisme ne puisse être réglé par un mécanisme nerveux ou circulatoire. Elles sont à rapprocher des écarts observés sur une large échelle par *A. Hée* et moi (recherches inédites) dans la consommation d'oxygène *in vitro* des tissus de poikilothermes, animaux ne possèdant pas de mécanisme extracellulaire régulateur des échanges, (moule escargot, écrevisse, tanche, grenouille, tortue).

De nombreuses données sur la teneur en hémoglobine du sang des divers animaux, établies au cours de ce travail ont permis de constater l'indépendance de la consommation en oxygène du sang et de sa teneur en pigment respiratoire.

Le sang des animaux à hématies nucléées présente une respiration plus intense chez les sujets jeunes que chez les adultes.

d) *Action de l'insuline sur le métabolisme du sang* in vitro **[22, 23]**.

J'ai étudié avec *Kauffmann-Cosla* l'action de l'insuline sur la production de l'acide carbonique et sur la glycolyse du sang. L'augmentation de la production de l'acide carbonique a pu être régulièrement notée, tandis que l'action de l'insuline sur la glycolyse a présenté de grandes irrégularités. Eu égard à l'époque à laquelle ont été faites ces expériences (1925) les préparations d'insuline employées étaient trop impures pour qu'on puisse attribuer d'une façon certaine à l'insuline l'action inconstante des préparations sur la glycolyse.

B. — RECHERCHES SUR L'AVITAMINOSE B.

Ces recherches sont des essais de mise en évidence d'un trouble métabolique dans l'avitaminose B. Elles ont eu pour objet l'étude soit de l'urine des animaux carencés, soit de la consommation en oxygène de leurs tissus *in vitro*. Dans toutes les expériences qu'elles ont comporté, j'ai précisé la part qui revenait à l'inanition dans les troubles observés, ce qui m'a amené à étudier certains aspects du métabolisme des animaux inanitiés.

a) *Respiration des tissus dans l'avitaminose B* **[3, 5]**.

Parmi les théories avancées pour expliquer le mécanisme des troubles provoqués par la carence en facteur B, l'une d'elles, for-

mulée par *Abderhalden, Wertheimer* et *Schmidt, Hess,* invoquait une «diminution des oxydation cellulaires», se traduisant par un abaissement de la consommation en oxygène des tissus *in vitro*. J'ai pu montrer à l'aide de la technique indiquée dans un précédent paragraphe (voir page 54) que la consommation en oxygène des tissus de pigeon carencé présentant les crampes nerveuses habituelles aux animaux avitaminosés est identique à celle des tissus normaux. Ce résultat a depuis lors été confirmé par *Drummond* et *Marrian*.

J'ai en outre noté que les tissus des animaux inanitiés consomment *in vitro* un peu plus d'oxygène que les tissus homologues des sujets normaux. Ce fait, qui s'explique aisément par la disparition des réserves (inertes au point de vue respiratoire) des tissus au cours de l'inanition, a depuis lors été signalé par *Meyerhof* et ses élèves.

b) *Modifications de la composition de l'urine dans l'avitaminose B* **[37, 43, 44, 56, 60]**. *Variation du rapport C/N urinaire suivant la nature de l'alimentation.* **[24, 26]**.

De nombreux trauvaux dûs à l'école de *Bickel* ont montré que le rapport *carbone total/azote total* (C/N) urinaire présente chez le chien carencé en toutes les vitamines une valeur notablement plus élevée que chez l'animal normal. J'ai pu, avec *Kauffmann-Cosla,* confirmer ce fait et observer qu'il va de pair avec l'élimination urinaire de petites quantités d'acide lactique et l'aldéhyde acétique, phénomène qui pouvait être également mis en évidence chez l'homme diabétique. Dans une expérience faite sur deux chiens maintenus pendant sept mois en carence en vi-

tamines A, B, C, D, auxquels j'ai, par la suite, administré successivement ces vitamines, j'ai observé que seule l'ingestion de facteur B provoque un retour du rapport C/N urinaire à sa valeur normale (ou, suivant la terminologie proposée par *Nicloux*, fait cesser la dyscarbonurie). Cette réaction physiologique m'a paru devoir être rattachée à la théorie de *Mme Randoin* et *Simonnet* faisant intervenir dans la carence en vitamine B un trouble du métabolisme des glucides.

De nombreux travaux ont montré que l'élimination des divers constituants connus et dosables de l'urine ne présente chez les sujets carencés que des modifications irrégulières. Aussi, afin de déterminer si les troubles métaboliques de l'avitaminose B, dont l'existence est universellement admise, se traduisent par des modifications de la composition de l'urine en rapport avec la carence, et portant, comme c'est le cas dans divers troubles métaboliques (*Bouchard, Desgrez, Lambling*), sur l'«indosé urinaire», j'ai étudié les variations du rapport C/N urinaire dans la carence en facteur B. Ces recherches ont porté sur environ cinquante rats, recevant le régime au saccharose de *Mme Randoin* et *Simonnet*. Elles ont montré que la carence en facteur B provoque une augmentation nette de la valeur du rapport C/N urinaire, lequel reprend une valeur normale lorsque les rats carencés reçoivent une quantité suffisante de vitamine B. Mais cette augmentation, qui peut être rapportée à l'élimination de produits intermédiaires du métabolisme des glucides, est tardive ; elle ne se manifeste que lorsque les animaux ont déjà subi un amaigrissement prononcé. Elle ne doit pas toutefois être attribuée à l'inanition, car j'ai noté que celle-ci provoque au contraire un abaissement marqué de la valeur du rapport C/N. En outre l'étude du

bilan azoté chez le rat carencé et celle de l'évolution de la carence chez des animaux recevant une alimentation pratiquement dépourvue d'azote m'ont montré qu'on ne saurait rapporter à une inanition protidique les troubles métaboliques provoqués par la carence ; cependant, les rats en croissance cessent rapidement de fixer de l'azote lorsqu'on supprime la vitamine B de leur alimentation ; de plus, chez eux, l'inanition protidique détermine une très forte augmentation de la valeur du rapport C/N (d'une unité environ), et l'on ne note aucune différence, tant dans les variations de ce rapport, que dans la survie des animaux carencés ou non.

Il ressort de ce travail que les troubles métaboliques dûs à l'avitaminose B comportent des manifestations urinaires nettes, mais pas assez précoces pour être caractéristiques. En outre ces troubles ne sont pas limités aux glucides. Aussi doit-on considérer que la valeur du rapport : $\frac{\text{facteur B}}{\text{aliments totaux}}$ règle, plus probable que celle du rapport $\frac{\text{facteur B,}}{\text{glucides}}$ la quantité de facteur B nécessaire à l'«équilibre» d'une ration alimentaire.

Les faits relatifs aux variations du rapport C/N chez le rat carencé ont été récemment confirmés par *S. K. Kon*.

Des essais faits avec divers régimes m'ont permis de constater certaines variations de la valeur du rapport C/N urinaire avec l'alimentation : cette valeur est d'autant plus élevée que la ration est plus riche en glucides, ce qui vient à l'appui de l'opinion souvent exprimée, que le «carbone inconnu» de l'urine est en partie constitué par des dérivés glucidiques ou d'origine glu-

cidique. En outre des expériences faites avec *Kauffmann-Cosla* ont établi que, suivant la nature des protides ingérés, le rapport C/N et la carbonurie présentaient des valeurs diverses : l'ingestion de caséine et plus encore celle d'ovalbumine, détermine une élimination urinaire de carbone non uréique représentant une perte carbonée non négligeable (6 à 8% du carbone de la protéine ingérée), et une augmentation de la valeur du rapport C/N. Au contraire l'ingestion d'albumine de blé ne détermine l'excrétion d'aucun surplus important de carbone urinaire non uréique ; ce protide est donc mieux utilisé, par le chien tout au moins, que les précédents.

IV. TECHNIQUE.

1. — MICRODOSAGE DU PHOSPHORE. APPLICATIONS AU SANG. [**38**].

J'ai étudié les conditions de précipitation quantitative à l'état de phosphomolybdate de strychnine de quantités de phosphore de l'ordre de 0,1 mgr., afin d'en réaliser le microdosage (Micro-*Embden*) dans les substances organiques et dans le sang. Après avoir précisé les conditions favorables à cette précipitation, j'ai décrit une technique microanalytique répondant au but proposé. Cette technique, dont le principe avait été antérieurement indiqué par *K. Myrbäck*, consiste en la précipitation du phosphore à l'état de phosphomolybdate de strychnine, suivie du lavage du précipité à l'aide d'une solution saline neutre (par centrifugations successives) puis de la dissolution du complexe phosphoré dans un excès de soude N/40 et enfin du titrage de l'excès de soude employé dans cette dernière opération. Toutes les manipulations sont réalisées dans un tube à centrifugation.

Le degré de précision de la méthode est d'environ 2 pour 100 sur des quantités de phosphore de l'ordre de 0,02 à 0,15 mgr.. Les solutions de soude ou d'acide chlorhydrique N/40 employées pour la titration finale du dosage correspondent à 0,0407 mgr, de phosphore par cc..

J'ai appliqué cette méthode au dosage du phosphore minéral, du phosphore acidosoluble et du phosphore total du sang.

P. Rona propose l'emploi de ce microdosage des diverses «formes» de phosphore sanguin dans son récent précis : *Praktikum der physiologischen Chemie*. IIter Teil — Blut und Harn

en collaboration avec *H. Kleinmann*). Berlin, J. Springer ,ed., 1929, 764 p., 141 fig. (*loc. cit.* p. 261—263).

2. — DOSAGE DE L'OXYGÈNE DANS LE SANG. **[10]**.

Ce procédé, établi en collaboration avec mon Maître *M. Nicloux,* a pour principe le dosage eudiométrique de l'oxygène, dégagé par le sang placé dans le vide et soumis, après laquage des hématies au moyen d'une solution étendue d'ammoniaque, à l'action du ferrycyanure de potassium. Le dégagement quantitatif de l'oxygène de l'oxyhémoglobine ainsi traitée (*Bertin - Sans* et *Moitessier,* où l'on opère la réaction. Les résultats donnés par cette méthode ont été contrôlés à l'aide de l'extraction des gaz du sang par la pompe à mercure, suivie du dosage eudiométrique de l'oxygène dans les gaz recueillis. La concordance entre les deux méthodes a été satisfaisante. Le degré de présision de celle que nous avons proposée est d'environ 4 pour 100 pour des quantités de l'ordre de 1.5 cc. d'oxygène.

3. — MICRODOSAGE DU CARBONE.

J'ai mis au point deux applications du microdosage du carbone, l'une dans les filtrats sanguins, l'autre dans les fecès ; cette dernière a été étudiée en collaboration avec *A. Boivin.*

a) *Dosage du carbone total des filtrats de sang déféqué* **[41, 46]**.

J'ai appliqué au dosage du carbone total des filtrats de sang déféqué («carbone résiduel» des auteurs étrangers) la microméthode de mon Maître *M. Nicloux.* En égard à la faible te-

neur en carbone de ces filtrats j'ai, comme l'a recommandé *A. Boivin* pour les solutions diluées, procédé au dosage sur le produit de l'évaporation dans le vide sulfurique d'une quantité de filtrat de déprotéinisation correspondant à 1 cc, de sang. La combustion sulfo-argento-chromique a lieu dans ce cas sans production de quantités appréciables d'oxyde de carbone. En suivant la technique indiquée, on dose le carbone total des filtrats sanguins avec une précision de l'ordre de 2 à 3 pour 100.

b) *Dosage de carbone et de l'azote des fecès.* **[48].**

En collaboration avec *A. Boivin,* nous avons montré que les microdosages de l'azote par micro-Dumas et par micro-Kjeldahl, donnaient des résultats identiques dans les fecès. Le micro-Kjeldahl, plus simple, convient donc parfaitement pour l'étude de l'azote fécal.

La combustion sulfo-argento-chromique telle que l'a décrite initialement *M. Nicloux,* pratiquée sur les fecès, comporte une production d'oxyde de carbone. Pour doser le carbone fécal nous avons été amené à recommander soit le dosage par voie humide de *Nicloux* modifié par *Boivin,* soit le micro-Pregl. — Les deux méthodes conduisent aux mêmes résultats. Il n'est pas douteux que la récente modification apportée par *M. Nicloux* à son dosage permette de doser avec une exactitude égale et avec une simplicité plus grande le carbone fécal.

4. — MESURE DU pH DU SANG. **[13].**

Dans une note avec *E. Vellinger,* j'ai étudié la mesure du pH du sang total du sérum et du plasma à l'aide de l'électrode à

quinhydrone. Contrairement aux affirmations de *J. W. Corran* et *W. C. M. Lewis,* cette mesure est impossible dans le sang total ou dans les solutions d'hémoglobine, donnée qui, depuis la publication de cette note a été confirmée par de nombreux auteurs, en particulier par *G. E. Cullen* et *E. Biilmann*. Mais il est possible de mesurer le pH du sérum ou du plasma au moyen de l'électrode à quinhydrone en se servant d'une lame d'or. Dans la plupart des cas un potentiel stable s'établit et, lorsqu'il n'en est pas ainsi, l'extrapolation des variations du potentiel au temps 0 permet une mesure correcte du pH. L'électrode à quinhydrone comportant une légère erreur protéique dans les conditions étudiées ,nous avons établi la grandeur de la correction qu'on doit apporter aux valeurs expérimentales des mesures du pH du sérum. Des travaux récents de l'école américaine ont montré que l'emploi d'une telle correction devient inutile si l'on opère la mesure sur du sérum dilué au dixième.

Les faits relatifs à la mesure du pH du sérum ou du plasma à l'aide de l'électrode à quinhydrone ont été confirmés par *G. E. Cullen*.

Table des matières.